

⑤Int. Cl.⁵

識別記号

庁内整理番号

④公開 平成2年(1990)5月7日

C 12 P 19/14
 C 12 N 15/56
 C 12 P 19/12
 19/22
 //(C 12 P 19/14
 C 12 R 1:125)
 (C 12 N 15/56
 C 12 R 1:07)

8214-4B

8214-4B

8214-4B

6712-4B

6712-4B

8717-4B

C 12 N 15/00

A

審査請求 未請求 請求項の数 2 (全5頁)

④発明の名称 高純度マルトースの製造方法

②特 願 昭63-270855

②出 願 昭63(1988)10月28日

②発 明 者 新 見 匡 弘 茨城県牛久市牛久町701-28
 ②発 明 者 針 生 ゆ かり 静岡県富士市本町10-18 富士屋マンション3階A号室
 ②発 明 者 形 浦 宏 一 静岡県富士市中野490-17
 ②発 明 者 石 井 良 文 静岡県富士市大淵3369-5
 ②発 明 者 加 藤 和 昭 埼玉県北葛飾郡吉川町中曽根477
 ⑦出 願 人 東和化成工業株式会社 東京都千代田区大手町2丁目1番2号
 ④代 理 人 弁理士 太田 恵一

明 細 書

1. 発明の名称

高純度マルトースの製造方法

2. 特許請求の範囲

- 1 ①濃度5～15重量%の澱粉水溶液を加熱糊化する第1工程、
- ②得られた糊化物にβ-アミラーゼ、アルファ-アミラーゼ、イソアミラーゼからなる群の中から選ばれる2種以上の酵素を使用して糖化する第2工程、
- ③糖化開始後1～24時間目に、バチルス・ステアロサーモフィルス(*Bacillus stearothermophilus*)の遺伝子のマルトゲニック-α-アミラーゼがコードされた部分をはめ込んだプラスミドをバチルス・ズブティリス(*Bacillus subtilis*)に組込んで生産されたマルトゲニック-α-アミラーゼを添加して、糖化開始時点から10～48時間糖化を継続する第3工程、
- ④第3工程終了後pHを4.5以下に調整して水不溶成分を除去し、その後液化酵素を添加し

て溶液中のデキストリンを加水分解し、精製してマルトースを液中の固形分あたり94.5重量%以上含有した糖液を得る第4工程、

上記4工程を逐次的に実施することを特徴とする高純度マルトースの製造方法。

2 ①濃度5～15重量%の澱粉水溶液を加熱糊化する第1工程、

②得られた糊化物にβ-アミラーゼ、アルファ-アミラーゼ、イソアミラーゼからなる群の中から選ばれる2種以上の酵素を使用して糖化する第2工程、

③糖化開始後1～24時間目に溶液のpHを4.5以下に調整し、残渣を除去した後、得られた糖液にバチルス・ステアロサーモフィルス(*Bacillus stearothermophilus*)の遺伝子のマルトゲニック-α-アミラーゼがコードされた部分をはめ込んだプラスミドをバチルス・ズブティリス(*Bacillus subtilis*)に組込んで生産されたマルトゲニック-α-アミラーゼを添加し、糖化開始時点から10～48時間糖化

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

平2-119789

を継続して、その後液化酵素を添加して溶液中のデキストリンを加水分解し、ろ過・精製した後マルトースを液中の固形分あたり94.5重量%以上含有した糖液を得る第3工程、上記3工程を逐次的に実施することを特徴とする高純度マルトースの製造方法。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は高純度マルトースの製造方法に関するものである。

(従来の技術)

マルトース、即ち4- $[\alpha$ -D-グルコピラノシル]-D-グルコースは古来麦芽糖水飴の主成分として知られ、良質の風味を有するために広く食品に使用されてきた。

近年、食品加工への応用及び医薬への利用の面で、マルトースが他の多くの糖類に見られない特質を持つことが明らかにされており、その高純度品の需要が高まり、高純度マルトースの有利な工業的製造方法の確立が期待されている。

- 3 -

ルトースを主成分とする糖化液の成分をアルカリ金属形強酸性陽イオン交換樹脂でクロマト分離することにより、例えば純度93%以上の高純度マルトースを製造する方法である。

③第3の方法は、特開昭63-101356号公報に開示されているような汎用性の高い酵素を特殊な組み合わせで使用して高純度マルトースを得る方法である。

(発明が解決しようとする課題)

しかしながら、従来多くの方法があるにも拘らず、それらには何れも課題が残っており、経済的に有利な各種澱粉から、工業的に簡素な工程で、且つ有利に高純度のマルトースを製造する方法としては満足なものでなかった。

例えば、①に紹介されている方法は、澱粉を液化する際のDEをできるだけ低く抑える必要があり、更に具体的には、高純度のマルトースを得るためにはDEを2以下、更に好ましくは0.5～1.0にすることが要求される。

このDE値及びその後の工程中での数値を満た

す従来から、高純度のマルトースを製造する試みは数多くなされてきたが、高純度のマルトースを製造することは他の糖類の高純度品を製造することに比較して困難であり、実用的に成功している方法は少ない。

それらの従来法の中でも代表的な方法は、おおまかに以下のようなものであった。

①第1の方法は、例えば特開昭57-134498号公報に開示されているように、 α -アミラーゼで澱粉を低DE(デキストロース当量)に液化した後、 β -アミラーゼ及びイソアミラーゼを作用させて、マルトース高含有液を得る方法である。

②第2の方法は、特開昭57-209000号公報、同58-237999号公報、同60-67000号公報、同62-19210号公報等を開示されているようなグルコース含有量が少なく、マルトース純度75～85%程度(本明細書中、%とは特に断らないかぎり固形分あたりの重量%を示す。以下単に純度ということがある。)のマ

- 4 -

すためには、原料澱粉を価格の高い地下澱粉(馬鈴薯澱粉等)に限定し、更に液化濃度を20%以下と、通常のハイマルトースを製造する工程よりも低くする必要がある。

その結果、この方法は液化後のDEを2以下に抑えるために、極めて困難な、微妙な液化工程の調節が必要であり、また、糖化の際に、大量に生産・販売されているハイマルトースシロップやグルコースシロップの製造に使用されている糖化槽と比較して、非常に大きなものを必要とする。

更に、大量の水を濃縮する必要があるため、濃縮コストの増大を招くなどの経済的な欠点もあった。

また、②に紹介されている方法は経済的に有利な地上澱粉も使用し得る方法ではあるが、マルトースとDP(糖の重合度)3以上即ち、三糖以上のオリゴ糖とを分離するものであって、特にマルトースとマルトトリオースは分子量比つまり分子量の差が小さく、また、分離に必要なその他の性質の差異も小さいために分離が困難であることか

- 5 -

- 6 -

ら、容量の大きな分離塔を必要とし、分離に大量の溶出水を要することや、その結果この水の濃縮費用がかさむことなどの不利益がある。

更に、分離が困難なためにマルトース画分のなかにグルコースなどの不純物が混入することが多く、高純度のマルトースが得られにくいという欠点もあった。

更に、③に開示されている方法は汎用性の高い酵素を特殊な組み合わせで使用しており、実用性は高いが、糖化終了時点でグルコアミラーゼを比較的多く使用する必要があることや、糖化終了時点ではマルトースの純度が比較的に低いという欠点があった。

このような事情から、クロマト分離などの複雑で水を大量に使用する工程を経ずに、簡素な工程で、経済的に有利な地上澱粉からも高純度マルトースを製造可能な方法の開発が望まれていた。

(課題を解決するための手段)

前記課題を解決するために、本発明者等は鋭意研究を重ねた結果、澱粉を糊化した後、 β -アミ

ラーゼ等の既知汎用酵素で糖化し、遺伝子組み換えにより生産されたマルトゲニック- α -アミラーゼを用い、特定条件で糖化することにより低分子糖化物中のマルトース含有量が極めて多くなることを見出し、これを利用して高純度マルトースを製造することに成功して本発明を完成するに至った。

以下に本発明の内容を詳細に説明する。

本発明の目的は、簡素な工程で、クロマト分離等の複雑な工程を経由せずに、経済的に有利な地上澱粉からも、工業的に有利に高純度マルトースを製造し得る工程を提供することにある。

第一の本発明は、①濃度5～15重量%の澱粉水溶液を加熱糊化する第1工程、

②得られた糊化物に β -アミラーゼ、プルラーゼ、イソアミラーゼからなる群の中から選ばれる2種以上の酵素を使用して糖化する第2工程、

③糖化開始後1～24時間目に、バチルス・ステアロサーモフィルス (*Bacillus stearothermophilus*) の遺伝子のマルトゲニック- α -アミラー

- 7 -

- 8 -

ゼがコードされた部分をはめ込んだプラスミドをバチルス・ズブティリス (*Bacillus subtilis*) に組込んで生産されたマルトゲニック- α -アミラーゼを添加して、糖化開始時点から10～48時間糖化を継続する第3工程、

④第3工程終了後pHを4.5以下に調整して水不溶成分を除去し、その後液化酵素を添加して溶液中のデキストリンを加水分解し、精製してマルトースを液中の固形分あたり94.5重量%以上含有した糖液を得る第4工程、により構成される。

第二の本発明は、①濃度5～15重量%の澱粉水溶液を加熱糊化する第1工程、

②得られた糊化物に β -アミラーゼ、プルラーゼ、イソアミラーゼからなる群の中から選ばれる2種以上の酵素を使用して糖化する第2工程、

③糖化開始後1～24時間目に溶液のpHを4.5以下に調整し、残渣を除去した後、得られた糖液にバチルス・ステアロサーモフィルスの遺伝子のマルトゲニック- α -アミラーゼがコードされた部分をはめ込んだプラスミドをバチルス・ズブ

ティリスに組込んで生産されたマルトゲニック- α -アミラーゼを添加し、糖化開始時点から10～48時間糖化を継続して、その後液化酵素を添加して溶液中のデキストリンを加水分解し、ろ過・精製した後マルトースを液中の固形分あたり94.5重量%以上含有した糖液を得る第3工程、により構成される。

本発明によれば、上記のような簡素な工程を実施することにより94.5%以上という極めて高い純度のマルトースが得られる。

また、本発明によれば、地下澱粉からはもちろん、従来は困難であった地上澱粉からの高純度マルトースの製造も可能になる。

本発明には地上澱粉、地下澱粉の別を問わずに使用することができ、澱粉中のアミロースやアミロペクチンの組成も気にする必要はない。

本発明に使用可能な澱粉を具体的に例示するとトウモロコシ澱粉、馬鈴薯澱粉、その他、大麦、甘藷、タピオカなど由来の澱粉が挙げられる。

次に、これらの澱粉を加熱糊化するが、加熱糊

- 9 -

- 10 -

化の条件は澱粉の濃度を5～15%とし、温度110～160℃で行うことが、その後の工程を可能にし、純度の高いマルトースを得るために好ましい。

更に、この糊化物を55～60℃で第1段目の糖化をするが、その際にβ-アミラーゼ、プルラーゼ、イソアミラーゼからなる群の中から選ばれる2種以上の酵素を使用して糖化反応を実施する。

この糖化工程開始後第2段目の糖化、即ちマルトゲニック-α-アミラーゼを添加する前までの糖化の目安は1～24時間であり、その糖化物の水に溶解している物質中のマルトース含有量が88～93%、更には91～93%程度になったときが好ましい。

この第1段目の糖化に使用する糖化酵素は、β-アミラーゼとしては例えば長瀬産業㈱製のβ-アミラーゼ#1500、フィンシュガー社製のスベザイム(SPBZYME;登録商標)BBA1500などがあるが、それらの中でも、大豆由来のβ-ア

ミラーゼが本発明を実施する上で有利な性質を備えている。

また、プルラーゼとしてはノボ社製のプロモザイムや天野製薬㈱製のプルラーゼアマノCKL等が汎用性が高いことや本発明の実施上有利な性質を備えていることから好ましい。

次に、マルトゲニック-α-アミラーゼを添加して糖化するが、その好適な添加量は3～20u/gDSである。

このマルトゲニック-α-アミラーゼとしてはノボ社製のマルトゲナーゼがある。

更に、糖化終了後、pHを一度4.5以下に調整するが、このことにより酵素が失活するとともに糖化液中の残渣の分離・除去が容易に可能となる。

この後、液化酵素を添加して反応させるが、その時に好適な酵素添加量は0.1～30u/gDS、更に好適な量は1～20u/gDSであり、反応温度、pHは各々90～105℃、5.0～6.0程度が好ましい。

- 1 1 -

- 1 2 -

この液化酵素の反応の目安はヨード反応で管理することが便利であり、ヨード反応が呈色しなくなった時点が最も次工程の残渣の分離・除去及び精製に有利である。

以上の工程の後、通常の方法で残渣の分離・除去及び精製をし、液の固形分中のマルトース含有量94.5%以上の糖液を得ることができる。

また第二の本発明によれば、前記第1の発明の第2工程の後にpHを4.5以下に調整して残渣を除去した後、第2段目の糖化を行い、更に、前記と同様の条件下で液化酵素で処理した後精製して、純度94.5%以上の高純度マルトースを製造することができる。

これらの水不溶物の除去又は残渣の除去を行う方法としては遠心分離法など、澱粉糖化工業で一般に使用されている方法が採用可能である。

また、本発明の中で使用する液化酵素は、澱粉工業で一般に使用されているα-アミラーゼなどが、使用可能である。

以上の工程で得られた高純度マルトースは極め

て純度が高いので、そのまま又は単に粉末化してマルトースの商品群を形成することも可能であるが、必要に応じて結晶化やクロマト分離法などの採用によって更にマルトース純度を向上することも可能である。

また本発明によって得られたものをそのまま水素添加して高純度マルチトール又は結晶マルチトールとすることも可能であり、更に、本発明の高純度マルトースの純度を向上させた後に水素添加して高純度マルチトールや結晶マルチトールを製造することもできる。

(実施例)

以下に実施例を挙げて本発明の内容を更に具体的に説明するが、本発明は以下の実施例により限定されるものではない。

実施例-1

(第1工程) トウモロコシ澱粉を濃度11%に調整し、温度120℃で20分間加熱することにより糊化した。

(第2工程) 糊化液をpH5.5に調整し、温

- 1 3 -

- 1 4 -

度 57℃で 1 ml / kg 基質固形分 (以下 DS と略することがある。) のフィンシュガー社製スベザイム BBA 1500 及び 1 u / g DS のノボ社製プロモザイム TM 200 L を添加して、6 時間糖化反応を行った。

(第 3 工程) 糖化開始後 6 時間目にノボ社製マルトゲナーゼ 5 u / g DS を添加して、更に 24 時間糖化反応を継続した。

第 3 工程終了時の糖組成を高速液体クロマトグラフィーにより分析した結果は以下の通りであった。

一糖	1.7%
二糖	95.8%
三糖	0.5%
四糖以上のオリゴ糖	2.0%

(第 4 工程) 第 3 工程の後、pH を 3.5 に調整して酵素を失活させ、水不溶成分を遠沈法により除去し、 α -アミラーゼ 20 u / g を添加して温度 100℃で溶液がヨード反応を呈さなくなるまで反応させ、ろ過・精製して高純度マルトース-1 を得た。

- 15 -

5.3 にて ノボ社製 マルトゲナーゼ 10 u / g DS を添加して、更に 24 時間糖化反応を継続した。

第 3 工程開始後 24 時間目に α -アミラーゼ 1 u / g を添加して温度 100℃で溶液がヨード反応を呈さなくなるまで反応させ、水不溶成分をろ過・精製して高純度マルトース-2 を得た。

このものの高速液体クロマトグラフィーによる分析の結果は以下の通りであった。

一糖	1.5%
二糖	95.1%
三糖	0.4%
四糖以上のオリゴ糖	3.0%

(発明の効果)

以上の記載から明らかなように、本発明により、地下澱粉からはもちろん、従来は困難とされていた地上澱粉からの高純度マルトースの製造も、簡素で且つ工業的に有利な工程で可能になった。

特許出願人 東和化成工業株式会社
代理人 太田 恵一

- 17 -

このものの高速液体クロマトグラフィーによる分析の結果は以下の通りであった。

一糖	1.7%
二糖	95.5%
三糖	0.7%
四糖以上のオリゴ糖	2.1%

実施例-2

(第 1 工程) 実施例-1 の温度を 150℃に変えた以外は実施例-1 の第 1 工程と同様に加熱することにより、トウモロコシ澱粉を糊化した。

(第 2 工程) 糊化液を実施例-1 の β -アミラーゼを長瀬産業製 β -アミラーゼ # 1500 に変えた以外は実施例-1 の第 2 工程と同様にして 24 時間糖化反応を行った。

糖化開始後 24 時間目の糖組成を高速液体クロマトグラフィーにて分析した結果は次の通りであった。

一糖	検出せず
二糖	92.5%
三糖	5.0%
四糖以上のオリゴ糖	2.5%

(第 3 工程) 糖化開始後 24 時間目に pH を 3.0 に調整し、遠心分離法により残渣を除去し、pH

- 16 -